

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-254034

⑬ Int.Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和62年(1987)11月5日

G 01 N 1/28  
33/48

F-7324-2G  
M-8305-2G

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑮ 発明の名称 微小注入量測定装置

⑯ 特 願 昭61-97185

⑰ 出 願 昭61(1986)4月25日

⑱ 発 明 者 柏 木 克 也 京都市中京区西ノ京桑原町1番地 株式会社島津製作所三  
条工場内

⑲ 出 願 人 梅 谷 陽 二 東京都世田谷区池尻1-3-4-302

⑳ 出 願 人 株式会社島津製作所 京都市中京区西ノ京桑原町1番地

㉑ 代 理 人 弁理士 西 田 新

#### 明 細 書

##### 1. 発明の名称

微小注入量測定装置

##### 2. 特許請求の範囲

顕微鏡の視野下に置かれた細胞等の被処理物内に、マイクロビペットにより所定の物質を注入する装置において、上記顕微鏡に装着され、その顕微鏡像を写しとるTVカメラと、そのTVカメラによる映像信号を処理してCRTに表示せしめるとともに、上記注入前後における上記マイクロビペット内の上記物質のメニスカスの移動量およびメニスカス位置でのマイクロビペット径を読み取るための画像処理装置と、読み取られた上記移動量および径から上記物質の注入量を算出する演算装置を備えたことを特徴とする、微小注入量測定装置。

##### 3. 発明の詳細な説明

###### <産業上の利用分野>

本発明は顕微鏡下において、マイクロビペット等によって細胞等にDNA等を微小注入する際に、

その注入量を測定する装置に関する。

###### <従来の技術とその問題点>

従来、上述のような微小注入量を計測する方法として、注入すべき物質に蛍光物質もしくは放射性アイソトープを混ぜ、注入後にその量を測定する方法や、あるいは、電気泳動を利用して電流等の値から注入量を計算によって求める方法がある。これらの方法によっては、いずれも、注入すべき物質および注入される細胞等の双方に制約がある。

また、従来、注入すべき物質を常時一定流量でマイクロビペットの先端からたれ流しておき、注入時間を計測することによって注入量を求める方法がある。この方法では細胞や注入物質の制約がないものの、注入物質が少量しかない場合には適用することはできない。

最も一般的な方法としては、マイクロビペット内の注入物質と、空気あるいはオイル等との境界面、すなわちメニスカスを読み取り、注入によるその移動量とマイクロビペットの直径から注入量を求める方法があるが、目測による読み取りであ

るため精度が悪く、また、計算が面倒である。

本発明は上記に鑑みてなされたもので、物質的な制約を受けることなく、容易に高精度な注入量を求めることのできる、微小注入量測定装置の提供を目的としている。

#### <問題点を解決するための手段>

上記の目的を達成するための構成を、実施例図面に対応する第1図を参照しつつ説明すると、本発明は、顕微鏡1の視野下に置かれた細胞等の被処理物内に、マイクロビペット2により所定の物質を注入する装置において、顕微鏡1に装着され、その顕微鏡像を写しとるTVカメラ3と、そのTVカメラ3による映像信号を処理してCRT4に表示せしめるとともに、物質の注入前後におけるマイクロビペット2内の物質のメニスカスの移動量およびメニスカス位置でのマイクロビペット外径寸法を読み取るための画像処理装置5と、読み取られた移動量および外径寸法から、注入物質の注入量を算出する演算装置6を備えたことによって特徴づけられる。

5は、その映像信号を画像信号に変換してCRT4に供給し、TVカメラ3による被処理物およびマイクロビペット2の顕微鏡像を表示させるとともに、後述するように、画像内のマイクロビペット2を抽出して、メニスカスの位置デークおよびその位置におけるマイクロビペット2の外径寸法デークを求めることができる。

画像処理装置5により求められた位置デークおよび外径寸法デークは演算装置6に送られる。演算装置6では、これらの入力デークから、後述するように注入物質の注入量を算出する。なお、画像処理装置5および演算装置6はコンピュータによって構成することができる。

第2図はTVカメラ3により写しとられた顕微鏡画像の例で、この図を参照しつつ作用を説明する。

まず、第2図(a)に示すように、注入前において細胞等の被処理物Wとマイクロビペット2がCRT4の画面内にあって、かつ、マイクロビペット2の先端所定長さ以上が画面内で水平方向を向くよ

#### <作用>

顕微鏡像の画像情報から画像処理によって、注入前後におけるマイクロビペット2のメニスカスの移動量とその径を知り、演算装置6によって注入量を求めるので、物質的な制約を受けることなく、高精度の注入量を得ることができる。

#### <実施例>

本発明の実施例を、以下、図面に基づいて説明する。

第1図は本発明実施例の構成図である。

細胞等の被処理物は顕微鏡1の視野下に置かれ、マイクロマニピュレータ7に装着されたマイクロビペット2によって、その内部に所定の物質が注入される。この注入は、マイクロビペット2に連通するマイクロインジェクター8の手動操作によって行われる。

顕微鏡1には、マイクロビペット2の一部を含む被処理物の顕微鏡像を写しとるためのTVカメラ3が装着されている。このTVカメラ3の映像信号は画像処理装置5に送られる。画像処理装置

5は、その映像信号を画像信号に変換してCRT4に供給し、TVカメラ3による被処理物およびマイクロビペット2の顕微鏡像を表示させるとともに、後述するように、画像内のマイクロビペット2を抽出して、メニスカスの位置デークおよびその位置におけるマイクロビペット2の外径寸法デークを求めることができる。

次に、マイクロインジェクター8を操作して、マイクロビペット2内の物質を被処理物W内に注入する。第2図(b)はこの注入後の画像例である。この状態において、同様にしてマイクロビペット2内のメニスカスの位置およびその位置におけるマイクロビペット2の外径寸法を求め、演算装置6に送る。

演算装置6では、注入前後におけるメニスカスの移動量 $\Delta$ と、各メニスカス位置でのマイクロビペット2の外径寸法から、注入量を算出する。

ここで、注入量はメニスカスの移動量 $\Delta$ と各メ

メニスカス位置でのマイクロビペット2の内径寸法とによって求まるが、画像処理によって内径寸法を直接読み取ることは、屈折率の関係から困難である。そこで、あらかじめマイクロビペット2の内および外をオイル等で満たした状態で、1箇所もしくは複数箇所においてマイクロビペット2の内径寸法および外径寸法を測定しておき、その比を求めて演算装置6内に記憶しておく。実際の測定時において画像処理によって求められた外径寸法は、この比によって内径寸法に換算され、注入量の算出に供される。

なお、メニスカスの画像が不鮮明である等の場合には、画像処理のみによってはその位置を決定できないときがある。このような場合、オペレータがCRT4の画面上に表示されるカーソル等を移動させて画面上でメニスカス位置を決定し、メニスカスの移動量を求めることもできる。

また、あらかじめオペレータが目標とする注入量をインプットしておくことにより、注入前のメニスカス位置および外径寸法を画像処理で読み取

った後、そのデータに基づいて、メニスカスをどこまで移動させることによって目標量の注入が達成されるかを、CRT4の画面上に表示させることもできる。

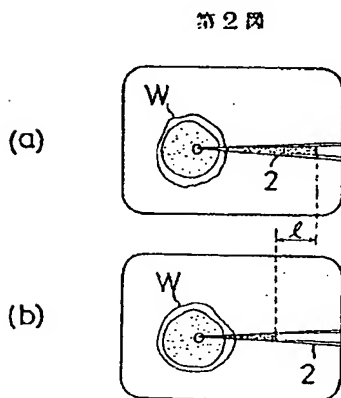
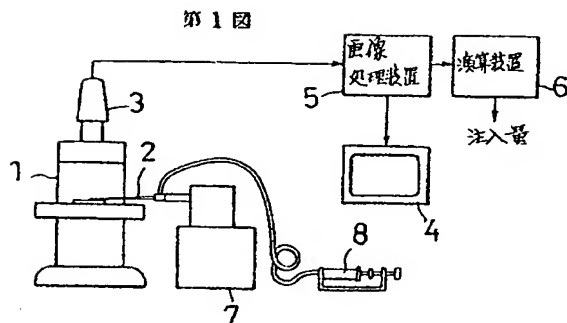
#### <発明の効果>

以上説明したように、本発明によれば、顕微鏡像の画像処理によってマイクロビペット内のメニスカスの移動量およびメニスカス位置における径寸法を読み取って、これらのデータから自動的に注入量を算出するので、高精度で、しかも、簡単に微小注入量の測定が可能となる。また、注入物質および被処理物質の制約は全くなく、どのような物質にも適用可能である。

#### 4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明実施例の構成図、第2はそのTVカメラ3による顕微鏡画像の例を示す図である。

- 1……顕微鏡                      2……マイクロビペット  
3……TVカメラ                  4……CRT  
5……画像処理装置              6……演算装置  
7……マイクロミニピュレータ



#### 手続補正書(方式)

昭和61年 6月30日  
殿

特許庁長官

#### 1. 事件の表示

昭和61年 特許願 第97185号

#### 2. 発明の名称

微小注入量測定装置

#### 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都世田谷区池尻1-3-4-302

氏名 梅谷 陽二

住所 京都市中京区河原町通二条下ル

一ノ船入町 378番地

氏名 (199) 株式会社島津製作所

代表者 西八條 實

#### 4. 代理人

住所 大阪市北区美我野町15番13号

ミユキビル 電話(06)315-7481

氏名 弁理士(7442) 西田 新

#### 5. 補正命令の日付

昭和61年6月24日(発送日)

#### 6. 補正の対象

明細書の図面の簡単な説明の欄

#### 7. 補正の内容

明細書第8頁15行目の記載「第2は」を「第2図は」と補正する。

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 62-254034

(43)Date of publication of application : 05.11.1987

---

(51)Int.Cl.

G01N 1/28

G01N 33/48

---

(21)Application number : 61-097185

(71)Applicant : UMETANI YOJI

SHIMADZU CORP

(22)Date of filing : 25.04.1986

(72)Inventor : KASHIWAGI KATSUYA

---

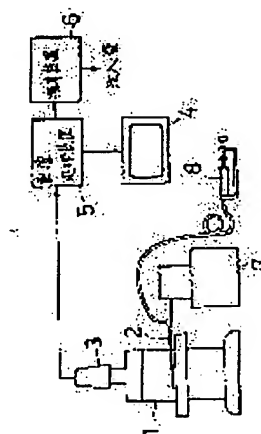
### (54) APPARATUS FOR MEASURING MINUTE INJECTION AMOUNT

#### (57)Abstract:

**PURPOSE:** To measure a minute injection amount with high accuracy, by reading the moving quantity of the meniscus in a micropipet and the diameter dimension of the meniscus position by the image processing of a microscopic image and calculating the injection amount from the obtained data.

**CONSTITUTION:** A TV camera 3 for taking the microscopic image of a substance to be treated containing a part of a micropipet 2 is mounted on a microscope 1 and the projected image signal of the camera 3 is sent to an image processing apparatus 5.

The apparatus 5 converts the projected image signal to an image signal to supply the same to CRT 4 and displays the microscopic images of the substance to be treated and the pipet 2 by the camera 3 and, at the same time, extracts the pipet 2 in an image to calculate the positional data of a meniscus and the outer diameter dimension data of a microburette 7 at the position of the meniscus. The positional data and outer diameter dimension data calculated by the apparatus 5 are sent to an operation apparatus 6 and the inflow amount of the injected substance is calculated from said data in the apparatus 6. By this method, an injection amount can be simply measured with high accuracy.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]